

IMMUNMODULÁLÓ TERÁPIA KÖVETKEZTÉBEN KIALAKULÓ NEUTRALIZÁLÓ ANTITESTEK JELENTŐSÉGE ÉS LABORATÓRIUMI MEGHATÁROZÁSA SCLEROSIS MULTIPLEXBEN

Seres Erika¹, Vécsei László^{1, 2}

¹Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Neurológiai Klinika, Szeged

²Magyar Tudományos Akadémia-Szegedi Tudományegyetem, Neurológiai Kutatócsoport, Szeged

IMPORTANCE OF THE ANALYSIS OF NEUTRALIZING ANTIBODIES TO IMMUNOMODULATORY THERAPY DURING TREATMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS

Seres E, MD; Vécsei L, MD

Clin Neurosci/Idergy Szle 2006;59(5-6):156-162.

Az interferon- α -, β -, γ -készítmények különböző betegségek kezelésében alkalmazhatók. Sok más fehérjéhez hasonlóan valamennyi interferon nagy valószínűséggel immunogén hatású, különösen azok, amelyek rekombináns géntechnológiával készültek. A sclerosis multiplex miatt interferon- β -terápiában részesülő betegek esetében célszerű az interferon- β ellen képződött antitestek kimutatása. A természetes interferon- β glikozilált, 166 aminosavból álló, 25 kDa molekulatömegű fehérje. A sclerosis multiplexben szenvedő betegek immunmoduláló kezelése során alkalmazott rekombináns interferon- β -1a és -1b készítmények ellen képződött anti-interferon- β -antitestek a szérumban kimutathatók. Az általánosan használt tesztek két típusát lehet elkülöníteni. Az egyik a kötő antitesteket, a másik a neutralizáló antitesteket méri. Az eredmények azt mutatják, hogy a szérumban magas titerben kimutatott kötő és neutralizáló antitestek csökkenthetik az interferon- β -készítmények klinikai hatásosságát. Glatiramer-acetát-kezelésben részesülő sclerosis multiplexes betegek szérumában is kifejlődhetnek úgynevezett reaktív antitestek.

A közleményben a szerzők az anti-interferon- β kötő és neutralizáló antitestekkel kapcsolatos irodalmi adatokat ismertetik.

Kulcsszavak: sclerosis multiplex, interferon- β -készítmények, glatiramer-acetát, kötő és neutralizáló antitestek, ELISA, vírusmediált sejtlízis mérése

Interferon- α , β , and γ have been used for the management of several diseases with varying clinical effects. Like many other proteins, all interferon species are potentially immunogenic especially those produced by recombinant gene technologies.

A reliable screening assay for anti-interferon- β antibodies is suggested for patients with multiple sclerosis receiving interferon- β therapy. Natural interferon- β is a glycosylated 166 amino acid 25 kDa protein, recombinant interferon- β is available for therapy as 1a and 1b products. Both preparations induce anti-interferon- β antibodies, detectable in the serum of interferon- β -treated patients with multiple sclerosis. The question of which assay is optimal for testing for anti-interferon- β antibodies in interferon- β -treated patients is unsettled. Two types of antibody assays are generally used: those measuring binding antibodies and those measuring neutralizing antibodies. The findings suggest that high titers of both binding and neutralizing antibodies reduce the clinical efficacy of interferon- β in relapsing-remitting multiple sclerosis, which is important for the long-term efficacy of these drugs. Treatment with glatiramer acetate has also been shown to induce the development of "reactive antibodies" in patients with multiple sclerosis.

This article briefly describes some of the findings concerning anti-interferon binding and neutralizing antibodies. (www.lam.hu)

Keywords: multiple sclerosis, interferon- β , glatiramer acetate, binding and neutralizing antibodies, ELISA, cytopathic effect assay

Levelező szerző: Dr. Seres Erika, Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Kémiai Intézet, 6725 Szeged, Somogyi Béla tér 1. Telefon: (62) 545-753, fax: (62) 544-559, e-mail: seres@clab.szote.u-szeged.hu

Érkezett: 2004. február 11. Elfogadva: 2005. augusztus 15.

A sclerosis multiplex a központi idegrendszer gyulladássos-demyelinisációs betegsége. A kórkép etiológiája nem ismert. Napjainkban az egyik legelfogadottabb teória, hogy a betegség vírusexpozíció által kiváltott autoimmun folyamat következménye¹⁻³. Ennek eredményeképpen az oligodendrocyták destrukciója és axonkárosodással járó demyelinisatio figyelhető meg. A sclerosis multiplexben zajló immunológiai folyamatok különböző citokinek termelésével kapcsolatosak, s elsősorban a proinflammatorikus citokinek (Th1 citokinek, interleukin-1, tumornekrózis-faktor- α) szérumszintjének emelkedése tapasztalható a betegség aktív szakaszában.

Az elmúlt évtized klinikai vizsgálatai számos farmakonról [interferon- β (1a-1b), glatiramer-acetát] bizonyították, hogy a kórkép relapsus-remisszió, relapsus-progresszív kórfomájában csökkentik a betegség aktivitását.

Az interferonok a citokinek családjába tartozó proteinek. Három osztályuk különíthető el: interferon- α , - β , - γ . Molekulatömegük 15–25 kDa között van, antivirális, immunmodulátor és antiproliferatív hatásokkal rendelkeznek. Az interferon- α -t a B-lymphocyták, a természetes ölüsejtek és a macrophagok termelik. Az interferon- β -t a fibroblastok, az epithelialis sejtek, a monocyták és a macrophagok, míg az interferon- γ -t a T-lymphocyták és a természetes ölüsejtek termelik.

Sclerosis multiplexben mind a liquorban, mind a perifériás vérben aktivált Th1 típusú lymphocyták és aktivált B-sejtek találhatók. A Th1 sejtek a celluláris immunválasz beindításáért és fenntartásáért felelősek, szerepük elsősorban a késői típusú túlérzékenységi reakciókban igazolt. A Th2 típusú lymphocyták citokinjei a B-sejtek aktivációjában, az ellenanyag-termelés regulációjában játszanak fontos szerepet. Az interferon- β hatásmechanizmusa sclerosis multiplexben nem ismert teljes egészében. Feltételezhető, hogy az interferon- β immunmoduláló, T-sejt-proliferáció-csökkenést eredményező hatása számos útvonalon mehet végbe: csökkenti az interferon- γ termelését, az IL-2 receptor génexpresszióját, a proinflammatorikus citokinek (IL-1, IL-2, IL-12) és a TNF- α termelését is. Növeli a szuppresszor T-sejtek aktivitását és az immunszuppresszív citokinek (IL-10) termelését.

Az interferon- β -készítmények általánosan elfogadott, hatásos szerek a kórkép kezelésében. Jelenleg három különböző rekombináns interferon- β -készítmény áll rendelkezésünkre, amelyek képesek a betegség aktivitásának csökkentésére. Az egyes interferon- β -készítmények jellemzői az **1. táblázatban** láthatók.

A glatiramer-acetát (Copaxone) a bázikus mye-

linproteinben megtalálható négy aminosav (L-alanin, L-glutaminsav, L-lizin, L-tirozin) szintetikus polipeptid keveréke. A feltételezett hatásmechanizmusa az, hogy kompetitíven gátolja a bázikus myelinprotein vagy más autoantigén kötődését az MHC-II-receptorokhoz, illetve a T-sejtekhez. A glatiramer-acetátról 1995-ben kettős vak, placebo-kontrollos, többcentrumos vizsgálatban igazolták, hogy csökkenti az exacerbatiók számát relapsus-remisszió kórfomájú sclerosis multiplexes betegek esetében. Nem volt szignifikáns hatása a betegek funkcióromlására, de több beteg esetében javulást figyeltek meg⁴.

Módszerek, eredmények

A KÖTŐ ÉS NEUTRALIZÁLÓ ANTITESTEK
LABORATÓRIUMI MEGHATÁROZÁSA

Irodalmi adatok alapján ismert az a tény, hogy az interferon- β -val és a glatiramer-acetáttal kezelt sclerosis multiplexes betegek egy része nem ad terápiás választ. A betegek szérumában kötő és neutralizáló antitestek mutathatók ki. A kötő antitestek megkötik az exogén úton bejuttatott interferon- β -t. A megjelenő neutralizáló antitestek pedig képesek megakadályozni az interferon- β -készítmények immunmoduláló hatását, csökkentve a terápia hatékonyságát.

Hasonló jelenség figyelhető meg hosszan tartó glatiramer-acetát-kezelést követően is. A kezelt sclerosis multiplexes betegek szérumában ugyanis glatiramer-acetát által indukált reaktív antitestek keletkeznek, amelyek feltételezhetően gátolják a glatiramer-acetát immunológiai aktivitását. A glatiramer-acetát által kiváltott antitest-reaktivitás meghatározható ELISA-val, a specifikus választ az antitestkötő index jellemzi, ha ABI ≥ 4 .

Salama és munkatársai 2003-ban kimutatták, hogy a szérumcitokin-profilban is változások következtek be, ha a glatiramer-acetát-kezelést követően magas volt a glatiramer-acetát-antitesttiter. A proinflammatorikus citokinek közül a TNF- α és az IL-12 koncentrációja emelkedett, míg az antiinflammatorikus IL-10 és IL-4 citokinek koncentrációja csökkent, szemben a kezeletlen csoporttal⁵.

A kötő és neutralizáló antitestek laboratóriumi mérése többféle módszerrel történhet. Meghatározhatjuk az anti-interferon- β -1a- és -1b-kötő antitesteket ELISA-val, Western blottal, affinitás kromatográfiás módszerrel és radio-immunprecipitációs vizsgálattal. A nemzetközi gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott technikák a kötő antitestek mérésére az ELISA és a Western blot. Ez utóbbi ugyan

1. táblázat. Az egyes interferon- β -készítmények jellemzői

Jellemző	Betaferon/Betaseron rekombináns interferon- β -1b	Avonex rekombináns interferon- β -1a	Rebif rekombináns interferon- β -1a
Gyártó	Schering AG, Németország/ Berlex, Egyesült Államok	Biogen, Franciaország	Ares-Serono, Anglia
Törzskönyvezett	1995 Európa 1994	1997 Európa 1996	1998 Európa 2002
Termelés helye	<i>E. coli</i> baktériumsejt	kínai hörcsög ovariumsejtje	kínai hörcsög ovariumsejtje
Aminosavszekvencia	165 aminosav, 5 α -helix metioninhány az 1-es pozícióban, ciszteinmutáció a 17-es pozícióban	azonos a humán interferon- β -val, 166 aminosav, 5- α -helix	azonos a humán interferon- β -val, 166 aminosav, 5- α -helix
N-terminálisan metionin	nincs	van	van
Glikozilált polipeptid	nem	igen	igen
Molekulatömeg	18,5 kDa	22–25 kDa	22–25 kDa
Vívóanyag	humán szérumalbumin, di- és monobázikus nátrium-foszfát, nátrium-klorid, pH: 7,2	humán szérumalbumin, di- és monobázikus nátrium-foszfát, nátrium-klorid, pH: 7,2	mannitol, humán szérumalbumin, nátrium-acetát, ecetsav, nátrium-klorid, pH: 3,8
Indikáció	relapszáló-remittáló sclerosis multiplex, szekunder progresszív sclerosis multiplex	relapszáló-remittáló sclerosis multiplex	relapszáló-remittáló sclerosis multiplex
Terápiás hatás	csökken a relapsusok gyakorisága és súlyossága, csökken az első exacerbációig eltelt idő, csökken az MRI-vel detektálható aktív laesiók száma	csökken a relapsusok gyakorisága, funkcióromlás progresszió- jának lassítása, csökken az MRI-vel detektálható aktív laesiók száma és nagysága	csökken a relapsusok gyakorisága és súlyossága, funkcióromlás, progresszió lassítása csökken az MRI-vel detek- tálható aktív laesiók száma
Terápiás dózis	250 μ g	30 μ g	22 és 44 μ g
Beadás útja, ideje	subcutan, másnaponta	intramuscularis, hetente egyszer	subcutan, másnaponta

kvalitatív teszt, de szenzitívebb és specifikusabb, mint az ELISA.

A neutralizáló antitestek meghatározása történhet a vírusmediált sejtlízis mérésével vagy myxoprotein A (MxA) -indukciós teszttel. Az intracelluláris humán Myxovirus-protein A-expressziót kizárólag az I-es típusú interferonok (INF- α , - β), vírusok idézik elő, és nagymértékű myxoproteinszint-emelkedés tapasztalható interferonkezelés során. A neutralizáló antitestek gátolják az MxA-protein-gén interferon által indukált expresszióját, és in vitro megakadályozzák a vírusnövekedést. Az MxA-indukciós teszten kívül a neutralizáló antitestek mérésére gyakran alkalmazott teszt – a WHO által ajánlott – az alábbiakban ismertetett vírusmediált sejtlízis mérése [a nemzetközi gyakorlatban cytopathic effect assay (CPE) néven ismert].

Vírusmediált sejtlízis mérése

A CPE⁶ során 96-os ELISA-lemezen A549 sejtek (humán tüdőcarcinoma-sejtvonal) egy rétegét helyezzük el, 70 000 sejt/ μ l átlagkoncentrációban, majd egy éjszakán át inkubáljuk. Ez után 10 IU/ml végkoncentrációjú interferon- β -készítménnyel kevert, 100 μ l hígított szérumot adunk a sejtvonalhoz, és 24 óráig inkubáljuk. A sejteket encephalomyocarditis (EMC) murine vírussal fertőzzük meg. Az EMC murine vírus sejtlízist okozna, amit azonban a hozzáadott interferon- β -készítmény képes gátolni. Az életképes sejtek mennyiségileg meghatározhatók 20%-os alkoholos kristályibolyával spektrofotometriás módszerrel, 24 óra elteltével. A sejtek által felvett festéket 33%-os ecetsavval eluáljuk és az abszorbanciát 620 nm-en mér-

2. táblázat. Kötő és neutralizáló antitestek (BAB, NAB) incidenciája interferon- β -kezelésben részesülő sclerosis multiplexes betegek esetében

Szerző (év)	Követési időszak	Laboratóriumi módszer	Eredmény
IFNB MS Study Group ⁷ (1996)	36 hónap	antivirális aktivitás (AVA)	91, Betaferonnal kezelt beteg 38%-ában NAB, csökkent választ tapasztaltak
PRISM-2 ⁸ (1998)	24 hónap	cytopathic effect (CPE)	189, Rebiffel kezelt beteg (22 μ g subcutan 3 \times /hét) 24%-ában NAB, nem volt csökkent válasz
European Study Group ⁹ (1998)	36 hónap	MxA-teszt	360, Betaferonnal kezelt beteg 27,8%-ában NAB, csökkent válasz volt
Rudick, MSCRG ¹⁰ (1998)	24 hónap	CPE	43, Betaferonnal kezelt beteg 23%-ában NAB, csökkent válasz volt (12–18 hó), 23, Betaferonnal kezelt beteg 26%-ában NAB, csökkent válasz volt (>18 hó), 70, Avonexszel kezelt beteg 6%-ában NAB (18 hó), 33, Avonexszel kezelt beteg 3%-ában NAB (24 hó), csökkent válasz volt
Antonelli és munkatársai ¹¹ (1998)	24 hónap	CPE	35, Rebiffel kezelt (11 μ g subcutan 3 \times /hét) beteg 16,7%-ában volt NAB, nem volt csökkent válasz 33, Rebiffel kezelt (33 μ g subcutan 3 \times /hét) beteg 15,1%-ában volt NAB, nem volt csökkent válasz
Deisenhammer és munkatársai ¹² (1999)	17 hónap	MxA-teszt	59, Betaferonnal kezelt beteg 15%-ában NAB (1–31 hó), volt csökkent válasz
OWIMS ¹³ (1999)	48 hét	CPE	95, Rebiffel kezelt (22 μ g sc. /hét) beteg 5,3%-ában volt NAB, nem volt csökkent válasz 98, Rebiffel kezelt (44 μ g sc./hét) beteg 16,3%-ában volt NAB, nem volt csökkent válasz
Rice és munkatársai ¹⁴ (1999)	8 év	MxA-teszt	28, Betaferonnal kezelt beteg 50%-ában NAB (1 év), 11%-ában NAB (8 év)
Myhr és munkatársai ¹⁵ (2000)	11 hónap átlagban	antivirális neutralizációs bioteszt (ANB) MxA-teszt	10, Betaferonnal kezelt beteg 80%-ában NAB, 9 Avonexszel kezelt beteg 22%-ában NAB
Kivisakk és munkatársai ¹⁶ (2000)	8–11 hónap átlagban (1–46 hónap)	ELISA, CPE	48, Betaferonnal kezelt beteg 81%-ában BAB, 44%-ában NAB, 20, Avonexszel kezelt beteg 20%-ában BAB, 5%-ában NAB, csökkent válasz nem volt
PRISM-4 ¹⁷ (2001)	48 hónap	CPE	167, Rebiffel kezelt (22 μ g sc. 3 \times /hét) beteg 24%-ában volt NAB, 167, Rebiffel kezelt (44 μ g sc. 3 \times /hét) beteg 14%-ában volt NAB, volt csökkent válasz
Cook és munkatársai ¹⁸ (2001)	16 hónap	MxA-teszt (> 1:20 hígítás)	64, Betaferonnal kezelt beteg 39%-ában NAB, volt csökkent válasz, 98, Avonexszel kezelt beteg 9%-ában NAB, volt csökkent válasz
Fernandez és munkatársai ¹⁹ (2001)	12 hónap	ELISA, CPE	31, Betaferonnal kezelt beteg 52%-ában BAB, 24%-ában NAB, nem volt csökkent válasz, 22, Avonexszel

A 2. táblázat folytatása.

Szerző (év)	Követési időszak	Laboratóriumi módszer	Eredmény
SPECTRIMS ²⁰ (2001)	36 hónap	CPE	kezelt beteg 32%-ában BAB, 14%-ában NAB, nem volt csökkent válasz 209, Rebiffel kezelt (22 µg sc. 3×/hét) beteg 21%-ában volt NAB, 204, Rebiffel kezelt (44 µg sc. 3×/hét) beteg 15%-ában volt NAB, volt csökkent válasz
Bertolotto és munkatársai ²¹ (2002)	6–18 hónap	CPE	29, Betaferonnal kezelt beteg 31%-ában NAB, 44, Avonexszel kezelt beteg 2%-ában NAB, 52, Rebiffel kezelt beteg 15%-ában NAB
INCOMIN ²² (2002)	24 hónap	CPE	96, Betaferonnal kezelt beteg 30%-ában NAB (1 év), 22%-ában NAB (2 év), 88, Avonexszel kezelt beteg 7%-ában NAB, (1 év) 6%-ában NAB (2 év), nem volt csökkent válasz

Az említett laboratóriumi módszereknél a nemzetközileg elfogadott és a szerzők által alkalmazott rövidítéseket alkalmazzuk. A táblázatban megtalálható, de a kéziratban nem említett két laboratóriumi módszer [antivirális aktivitás (AVA) és antivirális neutralizációs biotest (ANB) is hasonló eljárás a neutralizációs antitestek kimutatására, csak a szerzők másképpen nevezték el].

jük. Ha antiinterferon neutralizáló antitestek jelennek meg a szérumban, akkor megakadályozzák az interferon- β -készítmény immunmoduláló hatását. A szérum legmagasabb hígításának reciproka a neutralizáció 50%-a, neutralizáló 10 U/ml IFN-aktivitás.

A vírusmediált sejtlyzisz mérése lehetővé teszi az intrinszik antivirális aktivitás detektálását a szérummintákban.

A **2. táblázatban** összefoglaljuk az irodalomban talált eredményeket: a kötő és neutralizáló antitestek (BAB, NAB) incidenciáját az alkalmazott laboratóriumi módszerek szerint interferon- β -kezelésben részesülő sclerosis multiplexes betegek esetében.

Megbeszélés

A fehérjetermészetű készítményekkel szembeni immunválasz általános jelenség. Neutralizáló antitestek keletkeznek például vírusos hepatitis B- és hepatitis C-fertőzés miatt interferon- α -val történő kezelés során, hajás sejtes leukaemiában, marha- vagy sertésinzulinnal történő kezelés során diabetes mellitusban, VIII. és IX. faktor adásakor haemophiliában^{15, 23}. A keletkezett antitesteket mérhetjük antitestkötő teszttel, például ELISA-val. Az ELISA-tesztekkel meghatározott kötő antitesteknek azonban egy része neutralizáló antitest. Ezért az antitestkötő teszteket rendszerint arra használjuk, hogy kiszűrjük azokat a betegeket, akiknek a véré-

ben antitestek jelentek meg, még mielőtt specifikusan tesztelnénk (vírusmediált sejtlyzissel) ezeket a mintákat neutralizáló antitestekre.

A neutralizáló antitest pozitívításáról akkor beszélünk, ha a szérumminta képes az interferon- β biológiai aktivitását in vitro neutralizálni. Az I-es típusú interferonok számos biológiai aktivitással rendelkeznek. Az antivirális hatásuk bizonyítására legelfogadottabb az, hogy képesek indukálni a Myxoprotein A-gén expresszióját. A leggyakrabban használt interferon- β -aktivitás biológiai markerei perifériás vérben az Mx proteinek (A és B), a neopterin, a β_2 -mikroglobulin, a 2'5'-oligoadenilszintetáz. A vírusmediált sejtlyzisz mérése során is jól mérhető az interferon- β antivirális hatása. Mivel a különböző laboratóriumok különböző sejtvonalatokat és vírusokat használnak, és így a biológiai mérések nehezen standardizálhatók, ezért a WHO standard metodikát ajánlott⁶.

A neutralizáló antitesteket (NAB) meghatározó tesztekkel kapcsolatban felmerülő problémák:

A NAB-tesztek nem feltétlenül az interferon- β -t kötő antitesteket mérik, és így álpozitív eredményt adhatnak. Ennek elkerülésére különböző szérumhígításokat kell alkalmazni, kontrollal együtt minden egyes szérum vizsgálatakor²⁴.

A NAB-pozitív ráta különbözik a tesztek szenzitivitásától függően. A szenzitivitás függ a sejttípustól, az alkalmazott vírustól, a hozzáadott vírus mennyiségétől, a tesztserum kezdeti hígításától, a tesztben hozzáadott interferon mennyiségétől. Az

Mx-indukciós teszt esetében a használt metodika és reagens alapvetően befolyásolja az Mx-protein-termelés mennyiségét. Ha például túl sok a tesztben hozzáadott interferon mennyisége, ez alacsony NAB-rátához vezet, ha túl kevés, akkor NAB-pozitívnak azonosítjuk a beteget, ami valószínűleg nem egyezik a klinikai képpel^{10, 25}.

A NAB-pozitivitást a különböző tanulmányokban eltérően definiálják²⁶.

Nincs konszenzus arra vonatkozólag, hogy a neutralizáló antitestek kapott titerének mennyi a „cut off” értéke.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy az interferon- β -készítménnyel kezelt, sclerosis multiplexes betegek vérében keletkezhetnek antitestek. Ezek lehetnek interferont kötő antitestek (BAB), egy részük pedig neutralizáló antitest (NAB). A detektálható neutralizáló antitestek az interferon- β -kezelést követő 3–18. hónapban jelennek meg a beteg szérumban. Az interferon- β -1b-kezelésben részesült be-

tegek esetében hamarabb, és az esetek nagyobb részében kimutathatók mind a kötő, mind a neutralizáló antitestek a kezelést követő hat hónapban. Az interferon- β -1a-val (subcutan vagy intramuscularisan) kezelt betegek esetében a NAB-pozitív ráta a 9–15. hónapban éri el a csúcst. A különböző interferon- β -szerekkel szemben keletkezett anti-interferon- β -1b és -1a antitestek keresztreakciót adnak egymással, mind az ELISA, mind a biológiai módszerek alkalmazásakor. Az interferon- β -1b immunogenitása nagyobb, mint az interferon- β -1a készítményé²⁷. A PRISMS tanulmányban négyéves követés alapján a NAB-pozitivitás egyértelműen a terápiás hatékonyság csökkenését jelentette⁷. Perini és munkatársai szerint is a szérumban magas titerben lévő kötő és neutralizáló antitestek jelenléte komolyan befolyásolhatja az interferon- β -készítmények klinikai hatékonyságát²⁷.

További vizsgálatok szükségesek a NAB szerepének tisztázása céljából.

IRODALOM

1. Markovic-Plese S, McFarland HF. Immunopathogenesis of the multiple sclerosis lesion. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2001;1:257-262.
2. Stohlman SA, Hinton DR. Viral induced demyelination. *Brain Pathol* 2001;11:92-106.
3. Vécsei L, Komoly S. Sclerosis multiplex. Budapest: The-rápia Kiadó; 2003.
4. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1995;45:1268-76.
5. Salama HH, Hong J, Zang YCQ. Blocking effects of serum reactive antibodies induced by glatiramer acetate treatment in multiple sclerosis. *Brain* 2003;126:1-10.
6. WHO. WHO Expert Committee on Biological Standardisation. Thirty-fifth report. WHO Technical Report Series 725. Geneva: World Health Organisation; 1985.
7. IFNB MS Study Group. Neutralizing antibodies during treatment of multiple sclerosis with interferon beta-1b: experience during the first three years. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. *Neurology* 1996;47:889-94.
8. PRISM. Randomized double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet* 1998;352:1498-504.
9. European Study Group. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. *Lancet* 1998;352:1491-7.
10. Rudick RA, Simonian NA, Alam JA, et al. Incidence and significance of neutralizing antibodies to interferon beta-1a in multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Neurology* 1998;50:1266-72.
11. Antonelli G, Bagnato F, Pozzili C, et al. Development of neutralizing antibodies in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with INF-beta 1a. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18:345-50.
12. Deisenhammer F, Reindl M, Harvey J, et al. Bioavailability of interferon beta 1b in MS patients with and without neutralizing antibodies. *Neurology* 1999;52:1239-43.
13. OWIMS. Evidence of interferon beta-1a dose response in relapsing-remitting MS: the OWIMS Study. The Once Weekly Interferon for MS Study Group. *Neurology* 1999;53:679-86.
14. Rice GP, Paszner B, Oger J, et al. The evolution of neutralizing antibodies in multiple sclerosis patients treated with interferon beta-1b. *Neurology* 1999;52:1277-9.
15. Myhr KM, Ross C, Nyland HI, et al. Neutralizing antibodies to interferon (IFN) alpha-2a and IFN beta-1a or IFN beta-1b in MS are not cross-reactive. *Neurology* 2000;55:1569-72.
16. Kivisakk P, Alm GV, Fredrikson S, et al. Neutralizing and binding anti-interferon-beta (IFN-beta) antibodies. A comparison between IFN-beta 1a and IFN-beta 1b treatment in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2000;7:27-34.
17. PRISM-4. Long-term efficacy of interferon-beta-1a in relapsing MS. *Neurology* 2001;56:1628-36.
18. Cook SD, Quinless JR, Jotkowitz RN, et al. Serum IFN neutralizing antibodies and neopterin levels in a cross-section of MS patients. *Neurology* 2001;57:1080-4.
19. Fernandez O, Mayorga C, Luque G, et al. Study of binding and neutralizing antibodies to interferon-beta in two groups

- of relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J Neurol* 2001;248:383-8.
20. *SPECTRIMS Study Group*. Secondary progressive efficacy clinical trial of recombinant interferon-beta 1a in MS (SPECTRIMS) Study Group. Randomised controlled trial of interferon-beta 1a in secondary progressive MS: clinical results. *Neurology* 2001;56:1496-504.
21. *Bertolotto A, Malucchi S, Sala A, et al*. Differential effects of three interferon betas in neutralizing antibodies in patients with multiple sclerosis: a follow up study in an independent laboratory. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:148-53.
22. *Durelli L, Verdun E, Barbero P, et al*. Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta-1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN). *Lancet* 2002;359:1453-60.
23. *Lusher JM*. Haemophilia treatment. Factor VIII inhibitors with recombinant products: prospective clinical trials. *Haematologica* 2000;85:2-5.
24. *Ross C, Clemmesen KM, Svenson M, et al*. Immunogenicity of interferon-beta in multiple sclerosis patients: influence of preparation, dosage, dose frequency, and route of administration. *Danish Multiple Sclerosis Study Group. Ann Neurol* 2000;48:706-12.
25. *Perini P, Facchinetti A, Bulian P, et al*. Interferon-beta (INF-beta) antibodies in interferon-beta 1a- and interferon-beta 1b-treated multiple sclerosis patients. Prevalence, kinetics, cross-reactivity, and factors enhancing interferon-beta immunogenicity in vivo. *Eur Cytokine Network* 2001; 12:56-61.
26. *Giovannoni G, Munschauer FE, Deisenhammer F*. Neutralising antibodies to interferon beta during the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73: 465-9.
27. *Perini P, Calabrese M, Biasi G, et al*. The clinical impact of interferon beta antibodies in relapsing-remitting MS. *J Neurol* 2004;251:305-9.

FELHÍVÁS

A Magyar Klinikai Neurogenetikai Társaság olyan, a genetika és a neurológia iránt érdeklődő gyakorló orvosok, biológusok, genetikusok és PhD-hallgatók jelentkezését várja, akik szeretnék bekapcsolódni a társaság munkájába.

További információ és jelentkezés a társaság elnökénél: dr. Molnár Mária Judit főorvos, Országos Neurológiai és Pszichiátriai Intézet, 1021 Budapest, Hűvösvölgyi út 116. Telefon: (1) 391-5330, e-mail: neurogen@opni.hu; valamint a társaság titkáránál: dr. Klivényi Péter adjunktus, Szegedi Tudományegyetem, Neurológiai Klinika, 6725 Szeged, Semmelweis u. 6. E-mail: klivenyi@nepsy.szote.u-szeged.hu).